

#### 4 ホルスタイン種搾乳牛に認められた急性好中球性白血病

県北家畜保健衛生所

壘玲子、米山州二、阿部祥次、小菅博康、小池新平

県央家畜保健衛生所

高橋孝志、矢島佳世

##### はじめに

牛の白血病は、腫瘍細胞の起源から、リンパ腫と骨髄性白血病に分類される。リンパ腫は、リンパ系幹細胞から派生した腫瘍で、牛白血病ウイルス (BLV) 感染によるものを含み、最も多くの発生がみられている。一方、骨髄性白血病は、骨髄系幹細胞から派生した腫瘍で、牛での報告数は未だに少ない。今回、管内酪農家の搾乳牛に、好中球由来の腫瘍細胞が増殖した骨髄性白血病を認めたので、その概要を報告する。

##### 発生状況

発生農場は、搾乳牛 120 頭、乾乳牛 15 頭、育成牛 40 頭をフリーストール牛舎で飼養する酪農家である。当該牛は、平成 18 年 8 月 19 日生まれのホルスタイン種で、平成 24 年 3 月 8 日に分娩し、翌日から血便、脱水、食欲不振、胎盤停滞、皮温不整及び発熱 (40.5℃) を呈した。その後、治療を続けるも改善が見られないことから、同年 3 月 27 日に鑑定殺し、病性鑑定を実施した (写真 1)。

##### 材料と方法

当所にて当該牛を剖検し、材料として血液、実質臓器、直腸便を採材した。

細菌学的検査は、実質臓器を 5% 羊血液寒天培地及び DHL 寒天培地にスタンプし、好気ないし微好気培養を行った。

ウイルス学的検査は、血清により BLV 抗体検査を行い、直腸便を用いてウイルス分離と PCR 検査を行った。なお、PCR 検査は、牛ウイルス性下痢ウイルス、牛コロナウイルス、A, B, C 群ロタウイルス及び牛トロウイルスについて行った。

病理組織学的検査は、常法によりパラフィン切片を作成し、HE 染色、ギムザ染色、ベルリンブルー染色、ナフトール AS-D-クロロアセテートエステラーゼ染色 (以下 エステラーゼ染色) 及び免疫組織化学的染色を行った。なお、免疫組織化学的染色は SBC 法 (streptavidin-biotin complex method) により、表 1 の 1 次抗体を用いて行った。



写真 1 鑑定殺時の当該牛

表 1 1次抗体

①MAC387 (Dako)	:mouse monoclonal	: 好中球のマーカー
②CD3 (Dako)	:rabbit polyclonal	: Tcell //
③CD79a (Dako)	:mouse monoclonal	: Bcell //
④CD68 (Dako)	:mouse monoclonal	: マクロファージ //
⑤第8因子関連抗原	:rabbit polyclonal	: 巨核球、栓球 //
⑥ヘモグロビン	:rabbit polyclonal	: 赤芽球系 //

結果

1 剖検所見

顕著な剖検所見として、内側腸骨リンパ節の高度な腫大を認めた（写真2）。

肺は一部肝変化及び全葉に肺気腫を認め、胆嚢は腫大していた。その他、心外膜の出血と腎臓の点状出血が確認された（写真3）



写真2 内側腸骨リンパ節の腫大

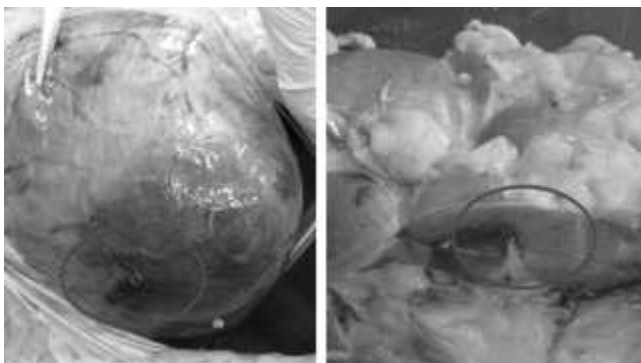


写真3 心臓と腎臓の出血性病変

2 血液検査成績

血液検査では、白血球数が軽度に高値（14,500/ $\mu$ L）を示した。白血球百分比では、桿状核球が51%を占め、リンパ球は9%のみであった（表2）。また、血液生化学検査においては、T-Choが50mg/dlと低値、GOT、GPTはそれぞれ159U/L、241U/Lと高値を示しており、低栄養状態で、肝機能障害を呈していた。

表 2 血液検査結果

項目	測定値	基準値
赤血球(万/ $\mu$ l)	732	500~800
白血球(百/ $\mu$ l)	<b>145</b> ↑	50~120
ヘマトクリット値(%)	34	34~40
白血球百分比(%)		
好塩基球	0	0~2
好酸球	1	2~12
桿状核球	<b>51</b> ↑	1~6
分葉核球	38	15~45
リンパ球	<b>9</b> ↓	45~75
単球	1	2~7
生化学的検査		
Glu (mg/dl)	161↑	45~70
T-Cho(mg/dl)	<50↓	100~180
BUN (mg/dl)	11	10~25
T-Bil (mg/dl)	0.8	0.1~0.8
GOT (U/L)	159↑	45~110
GPT (U/L)	241↑	15~150

### 3 細菌学的検査成績

胆嚢液から大腸菌が分離されたが、主要臓器からは有意菌は検出されなかった。

### 4 ウイルス学的検査成績

BLV 抗体検査は陰性であった。また、糞便からウイルスは分離されず、PCR 検査においても、各種ウイルスの特異遺伝子は検出されなかった。

### 5 病理組織学的検査所見

内側腸骨リンパ節において、腫瘍細胞が洞組織を中心にび慢性に多数浸潤していた（写真 4）。

肝臓、脾臓、腎臓並びに浅頸及び腸骨下リンパ節にも腫瘍細胞の浸潤が認められた。

腫瘍細胞は異型性を示し、不均一でやや大型の細胞が多くみられ、核は大型で円形～類円形のものも多く、核分裂像が確認され、細胞質は好酸性微細顆粒状であった（写真 5）。

顆粒の染色を目的としたギムザ染色では、多くの腫瘍細胞に赤色顆粒が認められた（写真 6）。

顆粒球のうち好中球系細胞で強い活性を示すエステラーゼ染色においては、細胞質が赤く染まった腫瘍細胞を確認した（写真 7）。

腫瘍診断の確定のために行った免疫組織化学的染色は、好中球のマーカである MAC387 のみ陽性に染まり（写真 8）、その他のマーカである CD3、CD79a、CD68、第 8 因子関連抗原、ヘモグロビンは染色陰性であった。

本症例は、腫瘍病変以外にも、大脳、間脳及び中脳にくも膜下出血、骨格筋に軽度の白筋症、肝臓と脾臓にヘモジデリン沈着、腎臓

に尿細管の変性壊死及び石灰化、小腸及び大腸の一部にカタル性腸炎等を認めた（写真 9、10、11、12）。

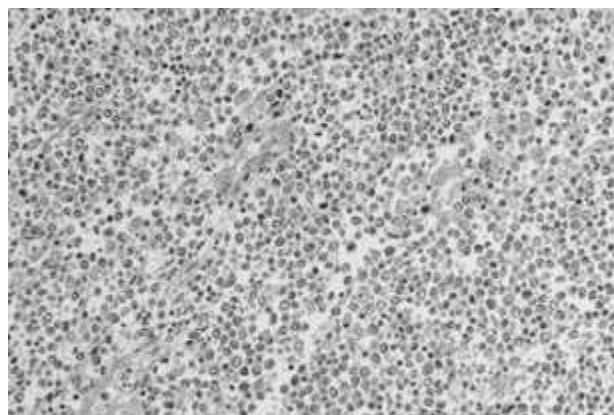


写真 4 (内側腸骨リンパ節 HE×50)  
び慢性に多数浸潤する腫瘍細胞

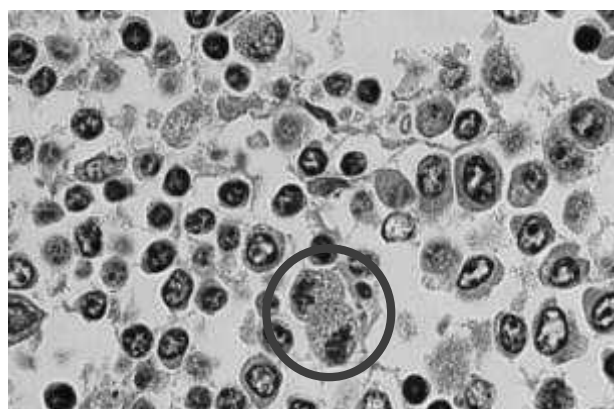


写真 5 (内側腸骨リンパ節 HE×500)  
異型性を示す腫瘍細胞。核分裂像が見られる

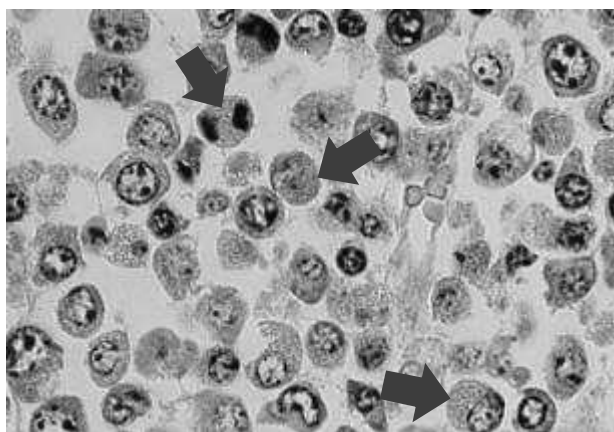


写真 6 (内側腸骨リンパ節 ギムザ×500)  
腫瘍細胞の細胞質に淡赤色の顆粒が見られる

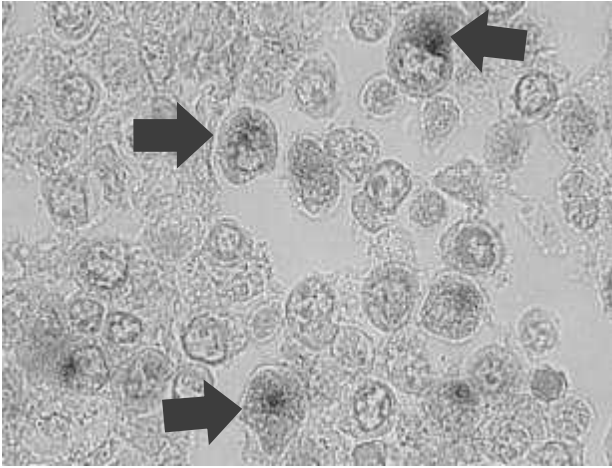


写真 7 (内側腸骨リンパ節 エステラーゼ×500) 細胞質が赤く染まった腫瘍細胞

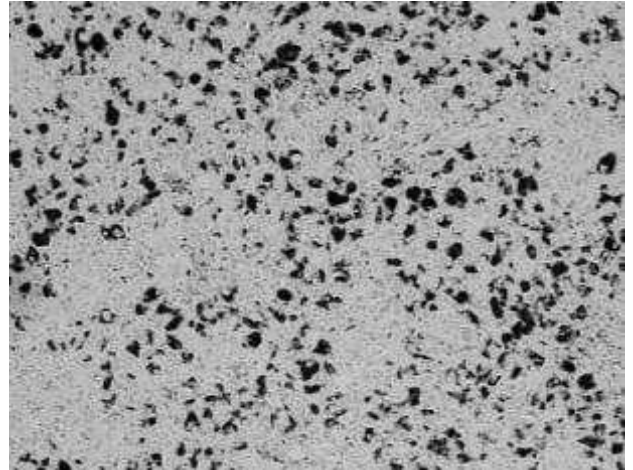


写真 10 (脾臓 ベルリンブルー×100) ベルリンブルー陽性に染まるヘモジデリンの多量な沈着

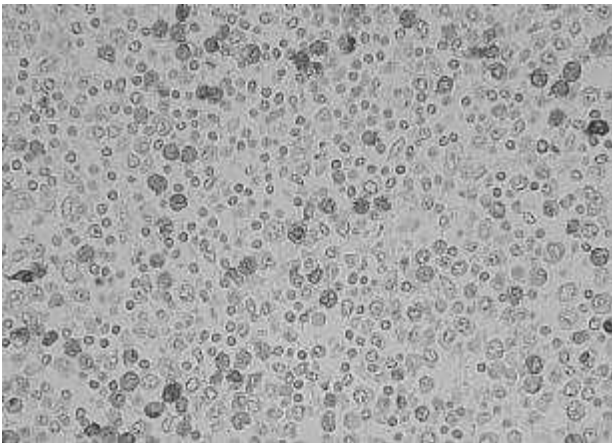


写真 8 (内側腸骨リンパ節 免染×200) 好中球のマーカである MAC387 で染色陽性

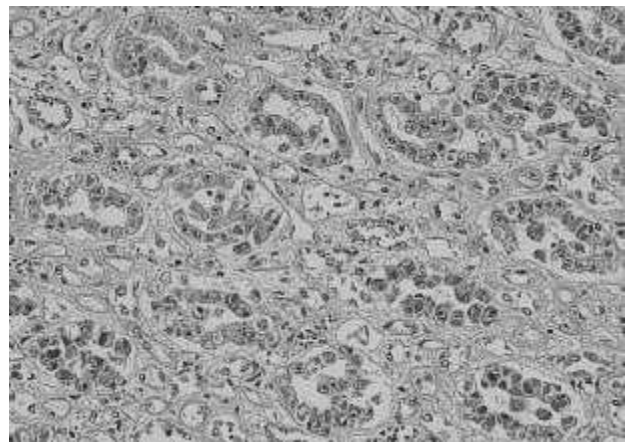


写真 11 (腎臓：髄質 HE×100) 尿細管上皮に好酸性物質の多量沈着と変性壊死が見られる



写真 9 (骨格筋 HE×100) 軽度の白筋症

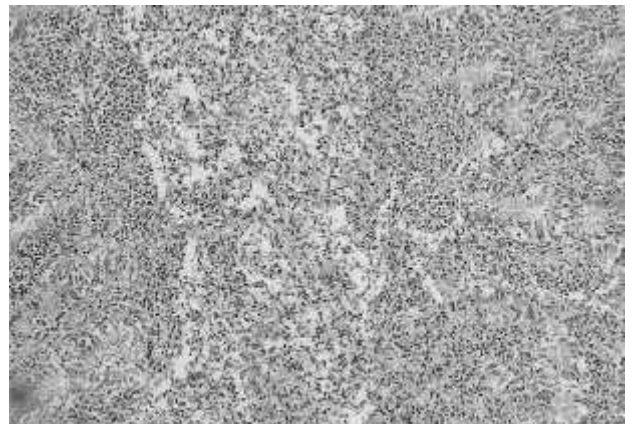


写真 12 (回腸 HE×100) カタル性腸炎

## まとめ及び考察

当該牛は肉眼所見では腫瘍結節が全く認められなかったが、病理組織学的検査において、腫瘍細胞が各種臓器で浸潤・増殖していた。白血球百分比においては、桿状核球分画が著しく増加しており、核の左方移動が見られたものの、組織所見では一様に大型で未熟な腫瘍細胞が多数認められたことから、急性白血病であることが疑われた。一方、腫瘍細胞の増殖の程度は高くなく、臓器への浸潤も限られているため、ごく初期段階の病態であったことが推測された。なお、腫瘍細胞の核分裂像が散見されており、悪性度は高く、予後は不良であったものと考えられた。腫瘍細胞のHE染色では、細胞質が好酸性微細顆粒状であることを認め、ギムザ染色とエステラーゼ染色の結果から、顆粒球であることが推測され、腫瘍細胞の形態的特徴も併せて好中球由来の細胞であることが疑われた。免疫組織化学的染色においても、好中球を主としたマーカーであるMAC387のみが陽性となり、腫瘍細胞が好中球由来の腫瘍であるものと判定した。以上のことから、当該牛は急性好中球性白血病の初期段階であったことが示唆された。

本症例は腫瘍病変以外にも、くも膜下出血やヘモジデリン沈着、白筋症及び尿細管の変性等が認められ、溶血性又は出血性及び代謝性疾患等の複合的な病態による全身性症状を呈していたことが推測された。これらの病変は腫瘍病変よりも以前に形成されたものと考えられ、稟告にあった全身症状の原因に大きく関与していた可能性がある。骨髄性白血病の原因については言及することは難しいが、これら病態による全身症状が白血病発症の引き金となったことは否定できないと考えられた。

牛での急性好中球性白血病は、これまで報告がなく、本症例は極めて稀な症例である。

稿を終えるにあたり、今回の病性鑑定で多くの御指導、御助言を頂きました独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 北海道支所 門田耕一先生に感謝いたします。